

Comparison of COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV Qualitative Test v2.0 with COBAS AMPLICOR Hepatitis C Virus Test v2.0 for the Qualitative Detection of Hepatitis C Virus RNA in Korean Clinical Samples

Soohun Yoo¹, Younhee Park², Hwan-Sub Lim², Young Ran Kim¹, Jung Eun Sim¹, and Hyon-Suk Kim¹

¹Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul;

²Department of Laboratory Medicine, Kwandong University College of Medicine, Gangneung, Korea

Corresponding author:

Hyon-Suk Kim

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, 50 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea

Tel: +82-2-2228-2443

Fax: +82-2-364-1583

E-mail: kimhs54@yuhs.ac

Background: We comparatively evaluated the performance of the conventional COBAS Amplicor HCV test v2.0 (CAM; Roche Molecular Systems, USA) and the newly developed COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV test v2.0 (CAP/CTM; Roche Molecular Systems) for qualitative detection of hepatitis C virus (HCV) RNA in clinical samples.

Methods: Six hundred serum samples (100 HCV-positive, 500 HCV-negative, as determined by CAM) were selected and analysed using the new qualitative HCV RNA test, CAP/CTM qualitative test. Results were compared by confirmatory CAP/CTM quantitative test, which is a quantitative HCV RNA real-time polymerase chain reaction by Roche Molecular Systems, and anti-HCV test (Roche Diagnostics GmbH, Germany). Twenty-two additional serum samples, which gave a gray zone result by CAM, were selected for comparison.

Results: The two qualitative HCV RNA assays yielded concordant results for 586 of 600 tested samples (concordance rate, 97.7%; kappa coefficient, 0.92; 95% confidence interval [CI], 0.87 to 0.96; $P < 0.001$). Upon re-testing by CAM, we found that the concordance rate increased to 98.2% (kappa coefficient, 0.93; 95% CI, 0.89 to 0.97; $P < 0.001$). The additional 22 samples showing gray zone results for CAM were retested and were also tested by CAP/CTM. The results for 13 of these samples changed to negative and were now concordant with the CAP/CTM and confirmatory CAP/CTM quantitative results. For the remaining samples, the results were variable. For all the 22 samples, the results of the new CAP/CTM were in agreement with those obtained by confirmatory CAP/CTM quantitative test.

Conclusions: The results of the two assays were in good agreement, with 97.7% concordance rate. However, CAP/CTM is more sensitive than CAM and showed no gray zone results. Therefore, it can be a more efficient and useful test for the qualitative detection of HCV RNA in clinical samples.

(J Lab Med Qual Assur 2013;35:93-9)

Key Words: Hepatitis C virus, Qualitative HCV RNA assay, COBAS Amplicor, COBAS AmpliPrep/Cobas TaqMan, Quantitative HCV RNA real-time polymerase chain reaction (PCR)

pISSN: 1225-097X
eISSN: 2288-7261

Received July 26, 2013, Revision received November 28, 2013, Accepted November 28, 2013

서론

C형 간염바이러스(hepatitis C virus, HCV)는 만성간 질환을 일으키는 주요 원인 중의 하나로, 세계적으로는 매년 3-4백만 명이 HCV에 감염되어 1억 5천만 가량의 인구가 HCV에 의한 만성간질환을 앓고 있으며 매년 35만 명이 HCV에 의한 간질환으로 사망한다[1]. C형 간염은 pegylated interferon- α 와 ribavirin의 병합요법으로 약 50%의 환자에서 영구적으로 HCV의 제거가 가능하다고 보고되고 있다[2,3]. 항바이러스제 치료 중 HCV의 복제와 동역학에 대한 평가는 환자 개인마다 치료기간을 결정하는데 영향을 주므로 치료 도중 HCV RNA 추적검사는 국제적 치료지침에 의해 추천되고 있다[4]. 따라서 보다 민감하고 넓은 검출범위를 가진 검사를 통한 HCV RNA를 검출하는 것이 더욱 중요하게 되었다. HCV의 치료를 결정하기 위해서는 최소한 15 IU/mL의 최소검출한계를 가지는 검사법을 통한 정성 및 정량검사결과가 요구되고 있다[5].

HCV RNA의 검출을 위해 현재 임상검사실에서는 COBAS Amplicor Monitor test (CAM; Roche Molecular Systems, Pleasanton, CA, USA)가 널리 사용되고 있는데, 검사자가 검체로부터 RNA를 추출하여 장비에 장착하면 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)법으로 핵산증폭 후 HCV RNA의 존재유무를 검출하는 방식이다[6,7]. 정량적 검사를 위해서 비교적 최근부터 사용되고 있는 COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan system (CAP/CTM; Roche Molecular systems)은 같은 제조회사 장비이지만 AmpliPrep 장비를 이용하여 자동으로 검체에서 핵산이 추출되고 추출된 HCV RNA가 도킹시스템으로 자동으로 Taqman Analyzer 장비로 옮겨져서 complementary DNA (cDNA) 합성 및 실시간 PCR (real-time PCR)까지 자동으로 이루어진다. 따라서 검사자가 검체를 조작하면서 발생할 수 있는 오염 및 작업자의 감염원에 대한 노출을 최소화할 수 있다. 뿐만 아니라 실시간 PCR법을 이용하므로 민감도와 특이도를 더 높일 수 있다는 장점이 있다[7-10]. 이와 같이 더 개선된 방법을 사용하는 closed-system의 CAP/CTM을 이용하여 HCV RNA를 정성적으로 검출하는 개선된 시약이 개발되었다.

저자들은 새로 개발되어 국내에 도입 예정인 CAP/CTM을 이용한 정성검사 시약인 HCV qualitative test v2.0 시약(Roche Molecular systems)과 현재 사용되고 있는 CAM HCV qualitative test v2.0 시약을 이용한 검사결과를 비교 분석하고, 새로운 시약의 성능을 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

연세대학교 의과대학 부속 세브란스병원 진단검사의학과에 HCV RNA 정성검사가 의뢰되었던 2011년도 검체 중 검체의 양이 충분하고 상태가 양호한 잔여 검체를 수집하여 익명화하고 결과치를 기록한 후 검사비교와 정도관리 목적으로 수집하여 두었던 혈청 검체들 중에서 선택하였다. HCV RNA 결과치를 살펴서 양성 100개와 음성 500개의 검체를 무작위로 선택하였다. 그리고 이외에 신규 시약의 진단 성능을 확인하고자 기존 CAM 검사결과 gray zone을 보이는 혈청 검체 22개를 추가로 더 선택하였다. 선택된 총 622검체에 대해 CAP/CTM을 이용한 HCV RNA 정성검사를 시행하여 기존 CAM을 이용하여 시행한 검사결과와 비교하였다. 이때 혹시라도 냉동보관으로 인한 검체의 불안정성 영향을 확인하고자 다시 기존 CAM 시약을 이용하여 재검하였으며, 불일치 결과의 확인을 위해서 정량적 HCV RNA 실시간 PCR법 검사(Roche Molecular systems)와 anti-HCV 검사를 시행하였다.

2. HCV RNA 검사와 anti-HCV 검사

1) RNA 추출

본 실험에서 검체는 모두 혈청을 사용하였는데, 선택된 -80°C 에 냉동보관되었던 혈청을 녹인 후 CAM의 경우는 전용 시약을 이용하여 200 μL 의 혈청 검체로부터 수작업으로 HCV RNA를 추출하였다. CAP/CTM의 경우는 650 μL 의 혈청 검체를 전용 시약과 함께 자동화된 핵산추출 장비인 COBAS AmpliPrep에 장착하여 핵산을 추출하였다.

2) HCV RNA 정성검사

두 가지 시약 모두 제조사의 지침서에 따라 검사하였다. CAM HCV test ver. 2.0 assay (Roche Molecular systems)는 키트 내에 포함된 전용 시약으로 200 μL 의 검체로부터 추출된 HCV RNA를 사용하였다. 추출된 HCV RNA와 master mix 등 전용 시약을 COBAS Amplicor Analyzer에 장착하면 장비 내에서 자동으로 target HCV RNA를 cDNA로 만들고 PCR로 증폭한 후 핵산부합법으로 발색된 프로브 양을 660 nm에서의 흡광도치로 측정하는 방법이다. 제조사의 설명서에 따르면 이 검사의 검출한계는 혈장에서 50 IU/mL이고 혈청에서는 60 IU/mL라고 표시되어 있다. 결과는 양성, 음성, gray zone으로 보고되는데, gray zone은 660 nm에서의 흡광도가 0.15-1.0인 경우

며, 양성과 음성은 각각 그 이상과 이하인 경우이다.

CAP/CTM HCV qualitative test v2.0 시약도 제조사의 지침대로 검사하였는데, 전자동 장비인 COBAS AmpliPrep 장비에서 HCV RNA가 자동 추출되고 도킹시스템으로 COBAS TaqMan Analyzer로 옮겨져서 전자동으로 역전사 반응과 실시간 중합효소반응법이 일어난다. 결과의 판독은 검사자가 threshold cycle (Ct) value로부터 계산하는 것이 아니고 HCV RNA와 internal control RNA에 대해 미리 입력된 Ct값에 의해 장비에서 자동으로 양성 혹은 음성으로 보고된다. 이 검사의 검출한계는 15 IU/mL로 표시되어 있다. 이때 핵산추출은 검체 500 μ L로부터 이루어지는데 실제로는 적어도 650 μ L의 검체가 있어야만 반응이 자동으로 진행된다.

3) HCV RNA 실시간 정량검사(HCV real-time quantitative PCR, HCV RQ-PCR)

HCV RNA의 정량적 측정은 CAP/CTM을 이용하여 제조사의 지침서에 따라 시행하였다. 정성검사방법인 CAP/CTM과 장비와 원리는 동일하고 시약만 COBAS AmpliPrep/TaqMan HCV quantitation test, v.2.0을 이용하는 것으로서, 검체를 전용 s-튜브에 650 μ L 이상 담아서 직접 전자동핵산추출 장비인 AmpliPrep에 장착하면 자동으로 핵산이 추출되어 도킹시스템으로 TaqMan Analyzer 장비로 넘어가서 cDNA 합성 및 real-time PCR이 진행되는데, 이때 농도를 아는 표준 QS (quorum sensing) 물질과 함께 실시간 중합효소반응법이 이루어지게 되어 정량이 가능한 방법이다. 이 정량검사 시약의 검출한계는 15 IU/mL로 표시되어 있다. 정성검사 때와 마찬가지로 필요한 장착 검체량은 650 μ L이지만 실제 HCV RNA 측정에 사용되는 양은 500 μ L이다.

4) Anti-HCV 검사

1차 CAM 검사결과 gray zone으로 보고된 22검체를 대상으로 COBAS e411 자동면역분석 장비(Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)를 사용하여 제조사의 지침에 따라 anti-HCV 검사를 시행하였다.

3. 통계분석

Chi-square test 검정을 통해 정성결과를 비교하고, 일치도와 kappa 계수를 산출하였다. P 값이 0.05 미만인 경우 유의한 것으로 판정하였다.

결과

먼저 gray zone 결과를 제외한 총 600개의 검체에서 시행한 두 가지 HCV RNA 정성검사결과가 완전히 일치한 경우는 586건이었다(Table 1). CAM 결과와 CAP/CTM 결과의 불일치가 14건 관찰되었다. CAP/CTM 검사에서 양성을 보인 경우는 HCV RQ-PCR에서 모두 HCV RNA가 측정되었다. 즉 일차로 분석한 두 종류의 정성검사결과 간의 일치율은 97.7%였으며, kappa 계수는 0.92이었다(95% 신뢰구간, 0.87-0.96; $P < 0.001$). 그러나 이 검체들이 1차 검사 후 냉동보관되었던 점을 감안하여 동등한 조건에서 분석하고자 CAP/CTM 검사를 실시하면서 다시 한번 CAM 검사를 핵산추출부터 재검하였으며, 확인검사로서는 정량검사인 HCV RQ-PCR을 실시하였다(Table 2). 그 결과 불일치가 관찰되었던 14건 중 3건은 2차 CAM 결과 양성에서 음성으로 변경되어 CAP/CTM 결과와 일치되었다. 2차 CAM 재검 후에도 결과가 일치하지 않았던 11건 중 1건은 음성에서 gray zone으로, 또 다른 1건은 양성에서 gray zone으로 변경되었는데, 각각의 CAP/CTM 결과는 양성과 음성이었다. 2차 CAM 결과 음성 4건은 CAP/CTM 결과는 양성이고, 2차 CAM 결과 양성이었던 5건은 CAP/CTM 결과 음성으로 나타났다. 2차로 재검한 CAM에서 변경된 결과를 가지고 다시 CAP/CTM 결과와 비교하였을 때 두 정성검사결과 간에 3건이 더 일치되어 589건의 검체 결과가 일치하게 되었으며(일치율 98.2%), kappa 계수는 0.93이었다(95% 신뢰구간, 0.89-0.97; $P < 0.001$).

확인검사로 HCV RNA 정량검사를 CAP/CTM real-time PCR (HCV-RQ PCR)로 실시하였는데, 그 결과는 CAP/CTM 정성검사결과와 모두 일치하였다(Table 2). 따라서 CAP/CTM 결과를 확인검사로 사용한 정량검사를 기준으로 한다면 임상적 민감도와 특이도는 각각 100%로 나타났다.

Table 1. Comparison of results of two HCV RNA qualitative tests, CAM and CAP/CTM

Variable	CAP/CTM		n=600
	Negative	Positive	
CAM Negative	495	5	500
Positive	9	91	100

Abbreviations: HCV, hepatitis C virus; CAM, COBAS Amplicor Monitor HCV qualitative test v2.0; CAP/CTM, COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan qualitative HCV test v2.0.

Table 2. Confirmatory (quantitative HCV real-time polymerase chain reaction) test results for 14 samples for which discrepant results were obtained by the two qualitative HCV RNA assays

Patient no.	CAM 1st	CAP/CTM qualitative	CAM 2nd	CAP/CTM quantitative (IU/mL)
1	Negative (0.004)	Positive	GZ (0.618)	8.92×10^5
2	Negative (0.005)	Positive	Negative	2.80×10^6
3	Negative (0.006)	Positive	Negative	8.25×10^1
4	Negative (0.031)	Positive	Negative	7.97×10^6
5	Negative (0.071)	Positive	Negative	1.31×10^6
6	Positive (1.069)	Negative	Positive (1.044)	Target not detected
7	Positive (1.376)	Negative	Negative	Target not detected
8	Positive (1.413)	Negative	Positive (1.601)	Target not detected
9	Positive (1.499)	Negative	Negative	Target not detected
10	Positive (1.665)	Negative	Negative	Target not detected
11	Positive (1.811)	Negative	GZ (0.824)	Target not detected
12	Positive (2.299)	Negative	Positive (3.671)	Target not detected
13	Positive (2.403)	Negative	Positive (1.186)	Target not detected
14	Positive (2.727)	Negative	Positive (1.298)	Target not detected

Abbreviations: HCV, hepatitis C virus; CAM, COBAS amplicor monitor HCV qualitative test v2.0; CAP/CTM qualitative, COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan qualitative HCV test v2.0; CAM 1st, first assay using COBAS amplicor monitor qualitative HCV test v2.0; CAM 2nd, repeat assay using COBAS amplicor monitor qualitative HCV test v2.0; GZ, gray zone.

Table 3. Confirmatory results for the additional 22 samples showing gray-zone results in the conventional HCV CAM test

CAM 1st	CAM 2nd	CAP/CTM qualitative	CAP/CTM quantitative (IU/mL)	Anti-HCV	Total n=22
Gray zone* (total n=22)	Negative (13)	Negative (13)	Target not detected (13)	Negative	4
				Positive	9
	Positive (5)	Negative (5)	Target not detected (5)	Negative	3
				Positive	2
	Gray zone (4)	Positive (2)	1.93×10^2	Positive	1
			3.0×10^1	Positive	1
		Negative (2)	Target not detected (2)	Negative	1
				Positive	1

Abbreviations: HCV, hepatitis C virus; CAM, COBAS Amplicor Monitor qualitative HCV test v2.0; CAP/CTM qualitative, COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan qualitative HCV test v2.0; CAP/CTM quantitative, COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan quantitative HCV test v2.0; CAM 1st, first assay using COBAS Amplicor Monitor qualitative HCV test v2.0; CAM 2nd, repeat assay using COBAS Amplicor Monitor qualitative HCV test v2.0.

*Gray zone: 0.15–1.0 (absorbance unit at 660 nm).

양성과 음성 검체 외에 기존 CAM 검사에서는 gray zone이라는 결과가 있기 때문에 이에 대한 평가를 실시하였다.

Gray zone 결과를 보였던 22개 검체에 대해 CAM 재검사, CAP/CTM 검사, HCV RQ-PCR, anti-HCV 검사를 실시

하였다(Table 3). 1차와 2차 CAM 검사에서 동일하게 gray zone 결과를 보였던 검체는 4개였는데, 이 중 2개 검체에서 CAP/CTM 결과는 양성이었으며 HCV RQ-PCR 검사결과 각각 1.93×10^2 IU/mL, 3.0×10^1 IU/mL로 측정되었다. 나머지 gray zone 2개는 CAP/CTM으로 음성이었다. 그리고 13건의 검체는 2차 CAM 검사에서 음성결과로 변경되어 CAP/CTM 결과와, 그리고 정량검사인 HCV RQ-PCR 결과와 일치하였다. 1차에 gray zone이었지만 재검 시 양성으로 된 5검체는 CAP/CTM으로는 음성이었다. 즉, 새로운 HCV RNA 정성검사 시약의 결과들이 확인검사로 실시한 실시간 중합효소반응을 이용하는 HCV RNA 정량검사결과와 모두 일치하였다. Anti-HCV 검사결과는 CAM, CAP/CTM 검사결과와 관계없이 다양하였다.

고찰

HCV 감염에 대한 일반적인 진단은 혈청으로부터 HCV에 대한 항체를 측정하는 것을 기본으로 한다. 그렇지만 감염의 상태가 지속되고 있는지 알아보기 위해서는 HCV RNA를 측정하여 판단할 수 있다. 또한 항바이러스제를 통한 HCV의 치료 시 최소한 15 IU/mL까지 RNA의 농도를 측정할 수 있는 민감도가 요구된다[5]. 따라서 더 민감한 HCV 정성검사법이 필요하게 되었고, 요구되는 최소농도의 측정이 가능한 CAP/CTM HCV test가 출시되었기에, 국내 임상 검체를 대상으로 평가하였다. 현재의 시약과 새 시약의 정성검사결과를 현재 확인검사로 사용되고 있는 민감도가 높고 검출범위가 넓은 실시간 HCV RQ-PCR 검사결과와 비교하였다. 두 정성검사 간의 일차 일치율은 97.7%였고, kappa 계수는 0.92로 0.8 이상의 높은 일치율을 보였다. 새로운 정성검사 시약 CAP/CTM HCV test 결과가 확인검사인 HCV RQ-PCR 결과와 모두 일치하였다. 검체의 냉동보관으로 검사결과가 불안정할 가능성을 고려하여 기존 CAM 결과 양성과 gray zone 결과들은 다시 CAM 검사를 재검하여 비교하였다. 두 가지 HCV RNA 정성검사 시약에서 일차 불일치를 보였던 14건에 대해 기존검사를 재검사한 결과 최종적으로는 11건이 불일치하였다. 또 새 시약의 성능평가를 위해 추가적으로 실시한 1차 CAM에서 gray zone 결과를 보였던 22개 검체들의 2차 CAM 재검사결과 13건이 CAP/CTM 결과와 일치하였고 9건만 불일치하였다. CAM에서 음성결과를 보였고 HCV RQ-PCR과 CAP/CTM 결과 양성이었던 4건과 CAM에서 gray zone이었고 HCV RQ-PCR과 CAP/CTM 결과 양성이었던 3건의 경우는 검

출한계가 60 IU/mL와 15 IU/mL라는 민감도 차이 때문일 것으로 판단되었다. 또한 622개 전체 대상 검체 중에서 2차 CAM 재검사 후 새로운 시약과 결과가 일치되었던 16건 모두 음성으로 결과가 변경되었는데(gray zone에서 음성으로 13건, 양성에서 음성으로 3건), 기존 사용하던 CAM 검사가 새로운 CAP/CTM 검사보다 비특이적인 반응을 보이는 경우가 있기 때문일 것으로 생각되었다. 2차 CAM 시행 후에도 불일치 결과를 보였던 CAM 결과 gray zone이고 CAP/CTM 결과 음성인 3건과 CAM 결과 양성이고 CAP/CTM 결과 음성인 10건(660 nm 흡광도, 1.044-3.673)의 결과는 이러한 비특이적 반응으로 인한 영향으로 생각되었다. CAM 결과 양성을 보였으나 새 시약인 CAP/CTM에서 음성결과를 보인 검체들에서 기존 CAM 검사결과의 흡광도가 비교적 낮은 값을 보여 이를 뒷받침하는 것으로 생각되었다. 2차 CAM 재검결과에서도 불일치를 보였던 경우 중 14건은 CAM 양성, CAP/CTM 음성(10건)과 CAM 음성, CAP/CTM 양성(4건)이었다.

본 연구결과 두 정성검사 시약 간에는 높은 일치율을 보여 시약의 성능은 거의 동일하였으나, 새로운 CAP/CTM HCV test v2.0이 최소검출한계치가 낮기 때문이었지만 더욱 민감하고, 확인검사로 사용되는 정량적 실시간 중합효소반응을 이용하는 HCV-RQ PCR 결과와의 일치율이 높은 것으로 판단되었다. 새 시약인 CAP/CTM HCV test v2.0의 경우 gray zone 결과가 없는데, 이 점이 추가로 다른 검체나 장비로 확인검사를 실시하는 빈도를 낮출 수 있고 임상적으로도 환자의 결과를 해석하는데 크게 도움이 될 수 있는 개선된 점으로 생각되었다.

또한 새로운 CAP/CTM system의 경우 장비 간 연결을 통해 검체를 장착하여 PCR 반응 후 검사결과를 얻을 때까지 검사자가 검사에 대해 추가작업을 할 필요가 없다. 따라서 검사 도중에 발생할 수 있는 검체의 오염으로 인한 잘못된 결과 및 작업자의 감염노출의 위험을 최소화할 수 있다는 장점이 있다[7-10].

결론적으로, 본 연구에서 비교 평가한 HCV RNA 정성검사 시약 중 새로운 CAP/CTM HCV test v2.0은 기존의 CAM HCV test v2.0 결과와 높은 일치율을 보였고, 특히 현재 확인검사로 사용되는 HCV-RQ PCR 결과와 100% 일치하는 결과를 보여, 시판 중인 CAM 검사를 대체할 수 있는 새로운 개선된 시약으로 생각되었다. 우수한 일치율과 높은 민감도를 보였으며 자동화로 인한 장점까지 감안하면 가격문제만 아니라면 임상검사실에서 사용하기에 훨씬 더 유용할 것으로 생각되었다.

REFERENCES

1. World Health Organization. Media centre [Internet]. Geneva: World Health Organization [cited 2013 May 23]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/index.html>.
2. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358:958-65.
3. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçales FL Jr, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-82.
4. European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2011;55:245-64.
5. Pas S, Molenkamp R, Schinkel J, Rebers S, Copra C, Seven-Deniz S, et al. Performance evaluation of the new Roche cobas AmpliPrep/cobas TaqMan HCV test, version 2.0, for detection and quantification of hepatitis C virus RNA. *J Clin Microbiol* 2013;51:238-42.
6. Jungkind D, Drenzo S, Beavis KG, Silverman NS. Evaluation of automated COBAS AMPLICOR PCR system for detection of several infectious agents and its impact on laboratory management. *J Clin Microbiol* 1996;34:2778-83.
7. Jungkind D. Automation of laboratory testing for infectious diseases using the polymerase chain reaction: our past, our present, our future. *J Clin Virol* 2001;20:1-6.
8. Stelzl E, Kormann-Klement A, Haas J, Daghofer E, Santner BI, Marth E, et al. Evaluation of an automated sample preparation protocol for quantitative detection of hepatitis C virus RNA. *J Clin Microbiol* 2002;40:1447-50.
9. Berger A, Scherzed L, Sturmer M, Preiser W, Doerr HW, Rabenau HF. Evaluation of the Cobas AmpliPrep/Cobas Amplicor HIV-1 Monitor Ultrasensitive Test: comparison with the Cobas Amplicor HIV-1 Monitor test (manual specimen preparation). *J Clin Virol* 2002;25 Suppl 3:S103-7.
10. Garcia-Diaz A, Clewley GS, Booth CL, Labett W, McAllister N, Geretti AM. Comparative evaluation of the performance of the Abbott real-time human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) assay for measurement of HIV-1 plasma viral load following automated specimen preparation. *J Clin Microbiol* 2006;44:1788-91.

한국인 임상 검체에서 HCV RNA의 정성적 검출을 위한 COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV Qualitative Test v2.0 과 COBAS AMPLICOR Hepatitis C Virus Test v2.0 시약의 비교

유수현¹ • 박윤희² • 임환섭² • 김영란¹ • 심정은¹ • 김현숙¹

¹연세대학교 의과대학 진단검사의학과, ²관동대학교 의과대학 진단검사의학과

배경: 본 연구에서는 hepatitis C virus (HCV) RNA의 정성적 검출을 위한 기존 시판 중인 COBAS Amplicor HCV qualitative test v2.0 (CAM; Roche Molecular Systems, USA)과 새로운 개선된 시약인 COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV qualitative test v2.0 (CAP/CTM; Roche Molecular Systems)을 비교 평가하였다. 현재 사용되는 CAM은 핵산추출 후 COBAS Amplicor Analyzer에서 자동으로 complementary DNA (cDNA) 합성과 polymerase chain reaction (PCR) 반응, 그리고 핵산 부합법으로 흡광도치를 가지고 HCV RNA를 검출하는 방법이고, 새로운 CAP/CTM은 핵산추출부터 cDNA 합성과 real-time PCR 반응까지 COBAS AmpliPrep과 COBAS TaqMan Analyzer에서 완전히 전자동으로 이루어지는 시스템이다.

방법: 기존 시약 CAM 결과를 기준으로 600개의 검체(양성 100건, 음성 500건)를 선택하였다. 추가로 새로운 시약의 진단성능 평가를 위해 기존 CAM에서 gray zone 결과를 보였던 22개의 gray zone 검체를 더 추가 선택하였다. 선택된 검체들에 대해 새로운 시약인 CAP/CTM, 확인검사인 실시간 중합효소반응을 이용한 정량검사인 HCV RQ-PCR과 혈청 내 anti-HCV 검사(Roche Diagnostics GmbH, Germany)를 시행하여 비교 분석하였다.

결과: 두 정성검사서 결과의 일치율을 보이는 경우는 600건 중 586건이었다. 따라서 두 정성검사 간 일치율은 97.7%였다(kappa 계수 0.92; 95% 신뢰구간, 0.87–0.96; $P < 0.001$). 검체의 안정성을 염려하여 기존 CAM 검사를 다시 재검하였는데, 새 시약과 기존 시약의 일치율이 증가하였다(98.2%, kappa 계수 0.93; 95% 신뢰구간, 0.89–0.97; $P < 0.001$). 또한 추가로 실시한 기존 CAM에서 gray zone을 보였던 22개 검체 결과에서 13건은 2차 CAM 검사결과 음성으로 변경되어 새로운 시약과 일치되었다. 나머지 9개의 검체 중 동일하게 gray zone을 보인 것은 4개 검체였는데 그 중 2검체는 새 시약으로 양성이고 2개는 새 시약으로 음성이었다. Gray zone이었지만 재검 시 양성으로 된 5검체는 새로운 시약으로는 음성이었다. 새 정성검사 시약의 결과가 확인검사로 실시한 실시간 중합효소반응을 이용하는 HCV RNA 정량검사결과와 모두 일치하였다.

결론: 같은 회사에서 출시된 두 가지 HCV RNA 정성검사시스템을 비교하였을 때, 두 검사 간의 일치율 97.7%, kappa 계수는 0.92이었고, 검체의 안정성을 고려하여 기존 CAM 시약으로 재검하였을 때 일치율은 98.2%, kappa 계수는 0.93으로 조금 더 일치율이 증가하였다. 새로운 CAP/CTM 검사가 더 민감도가 높았고 gray zone 결과를 보이는 경우도 없었다. 따라서 임상검사실에서 더 유용하게 사용될 수 있을 것으로 판단되었다.

(J Lab Med Qual Assur 2013;35:93–9)

교신저자: 김현숙

우)120-752 서울시 서대문구 연세로 50, 연세대학교 의과대학 진단검사의학과

Tel: 02)2228-2443 Fax: 02)364-1583 E-mail: kimhs54@yuhs.ac

